

## ***Staphylococcus aureus* RESISTENTES À METICILINA ISOLADOS DE ANIMAIS SILVESTRES EM UM CENTRO DE REABILITAÇÃO**

KAUANA KAEFER<sup>1</sup>; DÉBORA RODRIGUES SILVEIRA<sup>2</sup>; THAMÍRIS PEREIRA DE MORAES<sup>3</sup>; AMANDA DE OLIVEIRA BARBOSA<sup>4</sup>; VALÉRIA DEFAVARI MORETTI<sup>5</sup>; CLÁUDIO DIAS TIMM<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [kauanakaefer@gmail.com](mailto:kauanakaefer@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [debora.rsilveira@hotmail.com](mailto:debora.rsilveira@hotmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [mirismoraes@hotmail.com](mailto:mirismoraes@hotmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – [barbosa.oamanda@gmail.com](mailto:barbosa.oamanda@gmail.com)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – [vamoretti93@gmail.com](mailto:vamoretti93@gmail.com)

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – [claudiotimm@hotmail.com](mailto:claudiotimm@hotmail.com)

### **1. INTRODUÇÃO**

O Brasil possui uma ampla diversidade de animais silvestres, porém a destruição do ambiente natural, bem como a captura ilegal desses animais vêm comprometendo a sobrevivência das espécies em seu habitat (LADEIA; FENNER, 2010). Esse fato se reflete no aumento do volume de atendimentos e apreensões em centros de reabilitação (LEITE, 2012).

O Núcleo de Reabilitação da Fauna Silvestre (NURFS) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), desde 1998, recebe e trata animais silvestres que são encontrados feridos, órfãos ou oriundos do tráfico ilegal e, atualmente, é a principal referência de apoio ao trabalho de fiscalização e apreensão de animais silvestres pelas Polícias Ambiental, Civil e Militar Estadual e Federal na região sul do Rio Grande do Sul (NURFS, 2008). A presença de animais contaminados em um centro de reabilitação representa uma ameaça tanto para outros animais como para humanos que entram em contato com eles ou com o ambiente contaminado.

Bactérias do gênero *Staphylococcus* são importantes agentes etiológicos em Medicina Veterinária, sendo *S. aureus*, *S. intermedius* e *S. hyicus* as espécies mais relevantes por produzirem a enzima coagulase (WEESE; VAN DUIJKEREN, 2010). *S. aureus* é um patógeno frequentemente encontrado em vias aéreas de animais e humanos, sendo encontrado também no trato gastrointestinal. Essa espécie é a que mais está ligada a doenças estafilocócicas, quer sejam de origem alimentar ou não. Produzem vários tipos de toxinas, sendo as enterotoxinas as de interesse em alimentos e cursam com vômito, cólicas abdominais, diarreia e, mais raramente, enterite (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Inicialmente, a terapia antimicrobiana para infecções por esse microrganismo era simples. As penicilinas funcionaram muito bem até a década de 1960, quando começaram a aparecer isolados resistentes a esse antimicrobiano. Para contornar o problema, foi criado o beta-lactâmico sintético meticilina, que era resistente à ação das beta-lactamases, produzidas pelo *S. aureus*. Entretanto, surgiram cepas resistentes também a esse antimicrobiano. Essas cepas foram denominadas *Staphylococcus aureus* meticilina resistentes (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*, MRSA) e são resistentes a todos os antimicrobianos beta-lactâmicos (LOWY, 1998). Para a identificação de MRSA, o método mais utilizado é o teste de disco difusão, podendo ser utilizado os antibióticos oxacilina e cefoxitina, uma vez que a meticilina não é mais fabricada (MIMICA; MENDES, 2007; ZURITA et al., 2010).

Infecções por MRSA são um problema cosmopolita, podendo afetar tanto o homem quanto animais, existindo a possibilidade de transmissão entre ambos (LOEFFLER et al., 2005; COELHO et al., 2007). A presença de MRSA no ambiente se torna preocupante, ao se levar em conta que estudos mostraram que o mesmo pode permanecer em superfícies secas por períodos variados de tempo, persistindo por meses, mesmo após utilização de métodos de desinfecção (FERREIRA et al., 2015).

O objetivo do presente trabalho foi verificar a presença de MRSA em animais silvestres em processo de reabilitação no NURFS-UFPEL.

## 2. METODOLOGIA

Durante o período de julho de 2017 a julho de 2018 foram coletadas amostras de fezes de 174 animais, sendo 120 aves, 47 mamíferos e sete répteis, com o uso de zaragatoas diretamente do reto ou cloaca, conforme o caso, semanalmente dos animais que chegavam ao NURFS da UFPEL.

Para a determinação da presença de *Staphylococcus aureus*, as zaragatoas com as amostras de fezes foram diretamente semeadas em superfície de ágar Baird-Parker (Himedia, Mumbai, Índia) e incubadas a 37°C por 48 h. Três colônias típicas e três atípicas foram inoculadas em Infusão de Cérebro e Coração (BHI) (Himedia) e incubadas a 37°C por 24 h para posterior realização da prova da coagulase que consiste na mistura de 0,3 mL de cada cultura com 0,3 mL de plasma de coelho e incubação a 37°C por 6 h para observação de coagulação. As culturas em BHI foram misturadas com 20% de glicerol, para manutenção de estoque a -20°C.

Foi realizada a extração do DNA dos isolados positivos no teste da coagulase, conforme Sambrook e Russel (2001), e após foi realizada a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), pesquisando a presença do gene *nuc* com uso dos *primers* au-F3 e au-nucR (SASAKI et al., 2010) para identificação da espécie *S. aureus*.

As cepas confirmadas como *S. aureus* foram submetidas ao teste de disco difusão em Ágar Müeller-Hinton, utilizando o disco de cefoxitina para a identificação de MRSA. Os resultados obtidos foram avaliados segundo o Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (*Clinical and Laboratory Standards Institute*, CLSI) (2015), que considera resistente quando o halo possuir diâmetro menor ou igual a 21 mm e sensível halo com diâmetro maior ou igual a 22 mm.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 174 amostras de fezes analisadas durante o estudo, oito (4,6%) apresentaram *S. aureus* e, dessas, cinco (62,5%) foram provenientes de fezes de aves, sendo dois de Bem-te-vi (*Pitangus sulphuratus*), um galo (*Gallus gallus*), uma Andorinha (*Pygochelidon cyanoleuca*) e um Pica-pau-rei (*Campephilus robustus*), e três (37,5%) provenientes de fezes de mamíferos sendo um Macaco-prego (*Sapajus flavius*), um Ratão-do-banhado (*Myocastor coypus*) e um Gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*). Não foi detectado *S. aureus* em fezes dos répteis amostrados.

Dos oito isolados de *S. aureus*, quatro (50%) foram classificados como MRSA. Desses quatro, dois foram provenientes de aves, um de *P. sulphuratus* e um de *P. cyanoleuca*, e dois de mamíferos, um de *S. flavius* e um de *M. coypus*.

Outros trabalhos, realizados na Espanha, também têm isolado MRSA de animais silvestres. Gómez et al. (2014) realizaram um estudo para detectar MRSA em amostras de fezes de pequenos mamíferos e dois isolados foram resistentes à meticilina, ambos provenientes de ratos do campo. Porrero et al. (2013) estudaram a prevalência de MRSA na pele e narinas de mamíferos e aves silvestres capturados na natureza. As aves amostradas foram todas da espécie *Gyps fulvus*, popularmente chamado de Abutre-fouveiro, e 5% (2/40) foram positivas para a presença de MRSA. Nos mamíferos, a prevalência de MRSA foi ainda mais baixa, sendo encontrado em apenas 0,77% (10/1302) das três espécies pesquisadas – Javali (*Sus scrofa*), Cervo-vermelho (*Cervus elaphus*) e Íbex-Ibérico (*Capra pyrenaica*). O nosso estudo é o primeiro relato de que *P. sulphuratus*, *P. cyanoleuca*, *S. flavius* e *M. coypus* podem albergar MRSA e eliminá-lo em suas fezes.

Apesar do número limitado de animais positivos no presente estudo e nos estudos citados, é importante o conhecimento das espécies de animais que podem servir como portadores e assim disseminar o microrganismo no ambiente para que sejam adotadas medidas efetivas de controle da disseminação desse microrganismo.

#### 4. CONCLUSÕES

*Pitangus sulphuratus*, *Pygochelidon cyanoleuca*, *Sapajus flavius* e *Myocastor coypus* podem albergar *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina e eliminá-lo nas fezes, oferecendo risco de disseminação desse microrganismo no ambiente, constituindo possíveis fontes de contaminação para humanos e outros animais.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COELHO, S.M.O.; GOMES, L.P.; MORAES, R.A.M.; PEREIRA, I.A.; SOARES, L.C.; SOUZA, M.M.; S. Mapeamento do perfil de resistência e detecção do gene *mecA* em *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus intermedius* oxacilina-resistentes isolados de espécies humanas e animais. **Ciência Rural**, v.37, n.1, p.195-200, 2007

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. Twenty Fourth Informational Supplement. CLSI document M100-S24. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015.

FERREIRA, A.M.; ANDRADE, D.; RIGOTTI, M. A.; ALMEIDA, M. T. G.; GUERRA, O. G.; SANTOS JUNIOR, A. G. Avaliação da desinfecção de superfícies hospitalares por diferentes métodos de monitoramento. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v.23, n.3, p.466-474, 2015.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003.

LADEIA, L.Q.; FENNER, A. **Tráfico de animais silvestres**. 2010. 20f. Trabalho de conclusão (Especialização em Biociências Forenses) – Programa de Pós-graduação em Biociências Forenses, Pontifícia Universidade Católica de Goiás.

LEITE, T.O. **Uma discussão sobre a problemática da captura ilegal de aves no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil**. 2012. 28f. Trabalho de Conclusão de Curso

(Especialização em Diversidade e Conservação da Fauna), Instituto de Biociências, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

LOEFFLER, A.; BOAG, A.K.; SUNG, J.; LINDSAY, J. A.; GUARDABASSI, L.; DALSGAARD, A.; SMITH, H.; STEVENS, K. B. Prevalence of Methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. **J. Antimicrobial Chemotherapy**, v.56, p.692-687, 2005.

LOWY, F.D. *Staphylococcus aureus* infections. **The New England Journal of Medicine**, v.339, n.8, p.520-532, 1998.

MIMICA, M.J.; MENDES, C.M.F. Diagnóstico laboratorial da resistência à oxacilina em *Staphylococcus aureus*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.43, n.6, p.399-406, 2007.

NURFS. Núcleo de Reabilitação da Fauna Silvestre. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 25 jun. 2016. Acessado em 09 agosto de 2018. Online. Disponível em <http://wp.ufpel.edu.br/nurfs/>

PANTOSTI, A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with animals and its relevance to human health. **Frontiers Microbiology**, v.3, n.127, 2012.

PORRERO, M.C.; MENTABERRE, G.; SÁNCHEZ, S.; FERNÁNDEZ-LLARIO, P.; GÓMEZ-BARRERO, S.; NAVARRO-GONZALEZ, N.; SERRANO, E.; CASAS-DÍAZ, E.; MARCO, I.; FERNÁNDEZ-GARAYZABAL, J.F.; MATEOS, A.; VIDAL, D.; LAVÍN, S.; DOMÍNGUEZ, L. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carriage in different free-living wild animal species in Spain. **The Veterinary Journal**, v.198, n.1, p.127-130, 2013.

GÓMEZ, P.; GONZÁLEZ-BARRIO, D.; BENITO, D.; GARCÍA, J. T.; VIÑUELA, J.; ZARAZAGA, M.; RUIZ-FONS, F.; TORRES, C. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carrying the mecC gene in wild small mammals in Spain. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.69, n.1, p.2061-2064, 2013.

WEESE, J. S.; VAN DUIJKEREN, E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. **Veterinary Microbiology**, v.140, n.3, p.418-429, 2010.

ZURITA, J.; MEJIA, C.; GUZMÁN- BLANCO, M. Diagnóstico e teste de sensibilidade para *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na América Latina. **Brazilian Journal Infectious Diseases**, v.14, n.2, 2010.